

PCT/EP 00 / 05518



REC'D 22 AUG 2000	
WIPO	PCT

### Bescheinigung

### Certificate

### Attestation

Die angehefteten Unterlagen stimmen mit der ursprünglich eingereichten Fassung der auf dem nächsten Blatt bezeichneten internationalen Patentanmeldung überein.

The attached documents are exact copies of the international patent application described on the following page, as originally filed.

Les documents fixés à cette attestation sont conformes à la version initialement déposée de la demande de brevet international spécifiée à la page suivante.

Den Haag, den  
The Hague,  
La Haye, le

**PRIORITY DOCUMENT**  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)

Der Präsident des Europäischen Patentamts  
Im Auftrag  
For the President of the European Patent Office  
Le Président de l'Office européen des brevets  
p. o.

*R. K. W.*

International patent application  
Patent application no.  
Demande de brevet n.

PCT/EP 00/05518

Blatt 2 der Bescheinigung  
Sheet 2 of the certificate  
Page 2 de l'attestation



Anmeldung Nr.:  
Application no.: PCT/EP 00/05205  
Demande n°:

Anmelder:  
Applicant(s): 1. Merck Patent GmbH - Darmstadt, Deutschland  
Demandeur(s): 2. Gesellschaft zur Förderung der Spektrochemie und angewandten Spektroskopie e.  
V. - Dortmund, Deutschland

Bezeichnung der Erfindung:  
Title of the invention:  
Titre de l'invention: Miniaturisiertes Analysensystem mit Vorrichtung zum Ausschleusen von Substanzen

Anmeldetag:  
Date of filing:  
Date de dépôt: 06. Juni 2000 (06.06.00)

In Anspruch genomene Priorität(en)  
Priority(ies) claimed  
Priorité(s) revendiquée(s)

Staat:  
State: Deutschland  
Pays:

Tag:  
Date: 16. Juni 1999  
Date: (16.06.99)

Aktenzeichen:  
File no. 199 27 535.1  
Numéro de dépôt:

Benennung von Vertragsstaaten : Siehe Formblatt PCT/RO/101 (beigefügt)  
Designation of contracting states : See Form PCT/RO/101 (enclosed)  
Désignation d'états contractants : Voir Formulaire PCT/RO/101 (ci-joint)

Bemerkungen:

Remarks:

Remarques:

Weitere Anmelder:

3. EISENBEISS, Friedhelm - Weiterstadt, Deutschland
4. STANISLAWSKI, Bernd - Frankfurt, Deutschland
5. GREVE, Thomas - Darmstadt, Deutschland
6. HERGENRÖDER, Roland - Dortmund, Deutschland
7. WEBER, Günther - Dortmund, Deutschland
8. GRASS, Benedikt - Werl, Deutschland
9. NEYER, Andreas - Iserlohn, Deutschland
10. JÖHNCK, Matthias - Münster, Deutschland

Feld Nr. V BESTIMMUNGEN VON STAATEN

Die folgenden Bestimmungen nach Regel 4.9 Absatz a werden hiermit vorgenommen (bitte die entsprechenden Kästchen ankreuzen, wenigstens ein Kästchen muß angekreuzt werden):

Regionales Patent

- ☒ AP **ARIPO-Patent:** GH Ghana, GM Gambia, KE Kenia, LS Lesotho, MW Malawi, SD Sudan, SL Sierra Leone, SZ Swasiland, TZ Vereinigte Republik Tansania, UG Uganda, ZW Simbabwe und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Harare-Protokolls und des PCT ist
- ☒ EA **Eurasisches Patent:** AM Armenien, AZ Aserbaidschan, BY Belarus, KG Kirgisistan, KZ Kasachstan, MD Republik Moldau, RU Russische Föderation, TJ Tadschikistan, TM Turkmenistan und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Eurasischen Patentübereinkommens und des PCT ist
- ☒ EP **Europäisches Patent:** AT Österreich, BE Belgien, CH und LI Schweiz und Liechtenstein, CY Zypern, DE Deutschland, DK Dänemark, ES Spanien, FI Finnland, FR Frankreich, GB Vereinigtes Königreich, GR Griechenland, IE Irland, IT Italien, LU Luxemburg, MC Monaco, NL Niederlande, PT Portugal, SE Schweden und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Europäischen Patentübereinkommens und des PCT ist
- ☒ OA **OAPI-Patent:** BF Burkina Faso, BJ Benin, CF Zentralafrikanische Republik, CG Kongo, CI Côte d'Ivoire, CM Kamerun, GA Gabun, GN Guinea, GW Guinea-Bissau, ML Mali, MR Mauretanien, NE Niger, SN Senegal, TD Tschad, TG Togo und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat der OAPI und des PCT ist (falls eine andere Schutzrechtsart oder ein sonstiges Verfahren gewünscht wird, bitte auf der gepunkteten Linie angeben)

Nationales Patent (falls eine andere Schutzrechtsart oder ein sonstiges Verfahren gewünscht wird, bitte auf der gepunkteten Linie angeben)

- |   |  |
|---|--|
| <input checked="" type="checkbox"/> AE Vereinigte Arabische Emirate     | <input checked="" type="checkbox"/> LR Liberia   |
| <input checked="" type="checkbox"/> AL Albanien                         | <input checked="" type="checkbox"/> LS Lesotho   |
| <input checked="" type="checkbox"/> AM Armenien                         | <input checked="" type="checkbox"/> LT Litauen   |
| <input checked="" type="checkbox"/> AT Österreich                       | <input checked="" type="checkbox"/> LU Luxemburg                                       |
| <input checked="" type="checkbox"/> AU Australien                       | <input checked="" type="checkbox"/> LV Lettland  |
| <input checked="" type="checkbox"/> AZ Aserbaidschan                    | <input checked="" type="checkbox"/> MA Marokko   |
| <input checked="" type="checkbox"/> BA Bosnien-Herzegowina              | <input checked="" type="checkbox"/> MD Republik Moldau                                 |
| <input checked="" type="checkbox"/> BB Barbados                         | <input checked="" type="checkbox"/> MG Madagaskar                                      |
| <input checked="" type="checkbox"/> BG Bulgarien                        | <input checked="" type="checkbox"/> MK Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien |
| <input checked="" type="checkbox"/> BR Brasilien                        | <input checked="" type="checkbox"/> MN Mongolei  |
| <input checked="" type="checkbox"/> BY Belarus                          | <input checked="" type="checkbox"/> MW Malawi  |
| <input checked="" type="checkbox"/> CA Kanada                           | <input checked="" type="checkbox"/> MX Mexiko  |
| <input checked="" type="checkbox"/> CH und LI Schweiz und Liechtenstein | <input checked="" type="checkbox"/> NO Norwegen  |
| <input checked="" type="checkbox"/> CN China                            | <input checked="" type="checkbox"/> NZ Neuseeland                                      |
| <input checked="" type="checkbox"/> CR Costa Rica                       | <input checked="" type="checkbox"/> PL Polen   |
| <input checked="" type="checkbox"/> CU Kuba                             | <input checked="" type="checkbox"/> PT Portugal  |
| <input checked="" type="checkbox"/> CZ Tschechische Republik            | <input checked="" type="checkbox"/> RO Rumänien  |
| <input checked="" type="checkbox"/> DE Deutschland                      | <input checked="" type="checkbox"/> RU Russische Föderation                            |
| <input checked="" type="checkbox"/> DK Dänemark                         | <input checked="" type="checkbox"/> SD Sudan   |
| <input checked="" type="checkbox"/> DM Dominica                         | <input checked="" type="checkbox"/> SE Schweden  |
| <input checked="" type="checkbox"/> EE Estland                          | <input checked="" type="checkbox"/> SG Singapur  |
| <input checked="" type="checkbox"/> ES Spanien                          | <input checked="" type="checkbox"/> SI Slowenien                                       |
| <input checked="" type="checkbox"/> FI Finnland                         | <input checked="" type="checkbox"/> SK Slowakei  |
| <input checked="" type="checkbox"/> GB Vereinigtes Königreich           | <input checked="" type="checkbox"/> SL Sierra Leone                                    |
| <input checked="" type="checkbox"/> GD Grenada                          | <input checked="" type="checkbox"/> TJ Tadschikistan                                   |
| <input checked="" type="checkbox"/> GE Georgien                         | <input checked="" type="checkbox"/> TM Turkmenistan                                    |
| <input checked="" type="checkbox"/> GH Ghana                            | <input checked="" type="checkbox"/> TR Türkei  |
| <input checked="" type="checkbox"/> GM Gambia                           | <input checked="" type="checkbox"/> TT Trinidad und Tobago                             |
| <input checked="" type="checkbox"/> HR Kroatien                         | <input checked="" type="checkbox"/> TZ Vereinigte Republik Tansania                    |
| <input checked="" type="checkbox"/> HU Ungarn                           | <input checked="" type="checkbox"/> UA Ukraine   |
| <input checked="" type="checkbox"/> ID Indonesien                       | <input checked="" type="checkbox"/> UG Uganda  |
| <input checked="" type="checkbox"/> IL Israel                           | <input checked="" type="checkbox"/> US Vereinigte Staaten von Amerika                  |
| <input checked="" type="checkbox"/> IN Indien                           | <input checked="" type="checkbox"/> UZ Usbekistan                                      |
| <input checked="" type="checkbox"/> IS Island                           | <input checked="" type="checkbox"/> VN Vietnam   |
| <input checked="" type="checkbox"/> JP Japan                            | <input checked="" type="checkbox"/> YU Jugoslawien                                     |
| <input checked="" type="checkbox"/> KE Kenia                            |  |
| <input checked="" type="checkbox"/> KG Kirgisistan                      |  |
| <input checked="" type="checkbox"/> KZ Kasachstan                       |  |
| <input checked="" type="checkbox"/> LC Saint Lucia                      |  |
| <input checked="" type="checkbox"/> LK Sri Lanka                        |  |

☒ KZ Kasachstan

☒ LC Saint Lucia

☒ LK Sri Lanka

**Erklärung bzgl. vorsorglicher Bestimmungen:** Zusätzlich zu den oben genannten Bestimmungen nimmt der Anmelder nach Regel 4.9 Absatz b auch alle anderen nach dem PCT-Übereinkommen bestimmten von mit Ausnahme der im Zusatzfeld genannter Bestimmungen vorgesehenen Bestimmungen ausser Acht. Der Anmelder erklärt, dass diese zusätzlichen Bestimmungen nicht den Bestimmungen des Übereinkommens widersprechen und dass er die Bestimmungen innerhalb der Frist von 15 Monaten eingehen.

**Merck Patent Gesellschaft  
mit beschränkter Haftung  
64271 Darmstadt**

**Miniaturisiertes Analysensystem mit  
Vorrichtung zum Ausschleusen von Substanzen**

### Miniaturisiertes Analysensystem mit Vorrichtung zum Ausschleusen von Substanzen

Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zum Ausschleusen definierter  
5 Fraktionen von Proben nach einer präparativen oder analytischen  
Flüssigphasentrennung in planaren, miniaturisierten Analysensystemen aus  
dem Trennkanal in einen weiteren Kanal bzw. in eine weitere analytische  
Vorrichtung.

10 Planare, miniaturisierte Analysensysteme bestehen aus Bauteilen mit  
eingearbeiteten Kanälen, in denen der Transport und/oder die Auftrennung  
gelöster Analyte beispielsweise mittels Kapillarelektrophorese oder  
Isotachophorese erfolgt. Ein derartiges Kanalsystem kann Y-förmige  
Verzweigungen und/oder X-förmige Kreuzungen (siehe Abbildung 1)  
15 aufweisen. Dabei sind die Winkel zwischen den Kanälen frei wählbar.

Für das Einschleusen von Probenmaterial wird üblicherweise eine X-  
förmige Anordnung der Kanäle benutzt, zum Ausschleusen eine Y-  
Verzweigung. Die Probenbestandteile werden dazu durch Anlegen einer  
20 Spannung an den Enden der Kanäle elektrokinetisch transportiert. Bei Y-  
verzweigten Kanälen kann beispielsweise der elektrokinetische Transport  
umgelenkt werden, wenn die elektrischen Potentiale von dem einen Kanal  
auf den anderen abzweigenden Kanal geschaltet werden. Auf diese Weise  
kann eine Fraktion einer Probe durch den abzweigenden Kanal  
25 ausgeschleust werden.

Die Steuerung derartiger Ausschleusevorgänge erfolgt entweder zeitlich  
definiert oder aktiv gesteuert bei vorheriger Durchgangsanalyse. Bei der

elektropherogramme als auch eine exakte Reproduzierbarkeit des Trenn-  
vorgangs vorausgesetzt. Der zu isolierende Analyt kann also nur aus einer  
bekannten Probe nach vorhergehender experimenteller Bestimmung seiner

Trennzeit ausgeschleust werden. Besonders für die Kapillarelektrophorese ist dieses Verfahren ungeeignet, da es durch Anlagerung von oberflächenaktiven Substanzen zu einer Veränderung des Zeta-Potentials an den Kanalwänden kommt. Dadurch tritt eine Modulation der elektroosmotischen Kraft und somit auch eine Modulation des zeitlichen Musters des Elektropherogramms auf. Aus diesem Grund wird eine zeitgesteuerte Ausschleusung meist nur zur Kontrolle oder Bestätigung durchgeführt.

5

10

15

20

25

30

Wesentlich genauer ist eine Ausschleusung der Analyte nach vorangegangener direkter Analyse. Von F. von Heeren et al. (Anal. Chem 68(13) (1996), 2044-2053) wird die aktiv gesteuerte Ausschleusung von Natrium-Fluoreszein beschrieben. Die Position des Fluoreszeins während des Trennprozesses kann kontinuierlich von einem Beobachter mit einer geeigneten optischen Vorrichtung verfolgt werden. Sobald sich die Fluoreszein-Bande an der Ausschleusungsstelle befindet, wird manuell ein Schaltvorgang ausgelöst, der zum Ausschleusen führt. Jedoch könnten selbst bei Automatisierung dieses Systems lediglich farbige oder fluoreszierende Substanzen detektiert und gezielt ausgeschleust werden. Dies bedeutet eine starke Einschränkung.

Andere Detektorsysteme für Ausschleusevorrichtungen konnten bislang nicht direkt in miniaturisierte, planare Analysensysteme integriert werden, so daß die Detektion und Separierung von Substanzen meist nach deren Austritt aus dem Analysensystem erfolgt.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es deshalb, für miniaturisierte planare Analysensysteme eine Vorrichtung zum Ausschleusen von Substanzen bereitzustellen, die direkt in die Analysensysteme integriert ist und aktiv gesteuert werden kann. Bevorzugterweise sollte die Vorrichtung zum Ausschleusen mit Detektionsvorrichtungen kombinierbar sein, die auf unterschiedlichen Prinzipien beruhen; somit wäre das Ausschleusen von Analyten vielseitig anwendbar.

Für planare Vorrichtungen für elektrophoretische Trennverfahren wurde eine Anordnung umfassend zumindestens drei Transportelektroden, eine Detektionsvorrichtung und eine Schaltvorrichtung gefunden, die es erlaubt, gezielt Fraktionen während des Trennvorgangs auszuschleusen. In bevorzugten Ausführungsformen ist die Detektionsvorrichtung als elektrische Leitfähigkeits- Impedanz- oder Potentialmeßvorrichtung ausgebildet.

Gegenstand der Erfindung ist daher eine Vorrichtung zum Ausschleusen von Fraktionen einer Probe für planare mikrostrukturierte Analysensysteme, die im wesentlichen aus einem Kanalsystem mit mindestens einer Y-Verzweigung, mindestens drei Transportelektroden und mindestens einer Detektionsvorrichtung vor besagter Verzweigungsstelle des Kanalsystems und einer elektrischen Schaltvorrichtung bestehen.

Bevorzugte Ausführungsform der Erfindung ist eine Vorrichtung zum Ausschleusen, in der die Detektionsvorrichtung ein elektrochemischer Detektor ist.

Gegenstand der vorliegenden Erfindung ist weiterhin die Verwendung einer erfindungsgemäßen Vorrichtung in einem planaren mikrostrukturierten Analysensystem.

Abbildung 1 zeigt beispielhaft eine X-Kreuzung (X) und eine Y-Verzweigung (Y) eines Kanalsystems entsprechend dem Stand der Technik.

Abbildung 3 und 4 zeigen schematisch Analysensysteme, in die eine erfindungsgemäße Vorrichtung zum Ausschleusen von Substanzen integriert ist.

5        Analysensysteme, in die eine erfindungsgemäße Vorrichtung zum  
Ausschleusen von Substanzen integriert werden kann, sind planare  
mikrostrukturierte Systeme, die zur Auftrennung von Substanzen dienen.  
Derartige überwiegend zweidimensionale Analysensysteme, bieten durch  
ihre geringe Größe und einfache Herstellung viele Vorteile gegenüber  
10       makroskopischen Analysensystemen. Die Analysensysteme können  
zusätzliche Analysevorrichtungen oder Vorrichtungen zur mikro-  
präparativen Derivatisierung beinhalten. Durch die Möglichkeit, Detektoren  
bzw. eine erfindungsgemäße Vorrichtung zum Ausschleusen schon bei der  
Herstellung von Analysensystemen direkt in diese Systeme zu integrieren,  
15       können Substanzen schon während oder nach der Trennung in dem  
Analysensystem analysiert und separiert werden. Beispielsweise in  
Analysensysteme, in denen Substanzen nicht nur getrennt und analysiert  
werden, sondern auch weiteren z.B. Derivatisierungsschritten unterzogen  
werden, können auch mehr als eine erfindungsgemäße Vorrichtung zum  
20       Ausschleusen integriert werden.

Die erfindungsgemäße Vorrichtung zum Ausschleusen besteht aus einem  
Detektorsystem, das ein Kanalsegment direkt vor dem Ausschleusungs-  
kanal analysiert, und einem verzweigten Kanalsystem mit entsprechenden  
25       Transportelektroden. Sobald der Detektor anzeigt, daß sich der  
gewünschte Analyt kurz vor der Abzweigung befindet, werden die  
Transportelektroden an den Enden der Kanäle umgeschaltet. Der weitere  
Transport erfolgt nicht mehr entlang des Trennkanals sondern in den  
abzweigenden Ausschleusungskanal. Dieser Vorgang wird beendet, wenn  
30       der Detektor anzeigt, daß die Analytbande die Ausschleusungsstelle  
passiert hat. Auf diese Weise lassen sich definierte Teile einer Probe  
präzise vom Rest der Probe trennen.



Der Vorgang des Ausschleusens umfaßt demnach folgende Schritte:

- Die räumlich aufgetrennte Probe wird durch entsprechende elektrische Spannung zu einer Verzweigungsstelle transportiert.
- 5 • Ein Detektor, der dicht vor der Verzweigungsstelle sitzt, mißt die vorbeiströmenden Komponenten oder eine Markersubstanz, die jeweils den Anfang und das Ende eines auszuschleusenden Bereichs kennzeichnet.
- Sobald die gewünschte Komponente detektiert wird, werden die  
10 Spannungen so umgeschaltet, daß der Fluß in den abzweigenden Kanal gelenkt wird.
- Nachdem die gewünschte Komponente den Detektor passiert hat, wird die Spannung zurückgeschaltet.

15 Auf diese Weise ist nun ein Teil der Probe räumlich vom Rest der Probe getrennt.

Die Steuerung des gesamten Vorgangs, besonders das Umschalten der Potentiale zwischen den Elektroden, erfolgt bevorzugt mittels einer elektronischen Schaltvorrichtung. Derartige Vorrichtungen und deren  
20 Anwendung sind dem Fachmann bekannt. Die abgetrennten Substanzen können anschließend innerhalb des Analysensystems weiterführenden Schritten, wie gesonderten Analysen, Derivatisierungen etc. unterzogen werden. Weiterhin können sie auch gezielt aus dem Kanalsystem des Analysensystems entnommen werden. Dazu wird das Kanalsystem mit  
25 zusätzlichen Ausgängen versehen. Diese Ausgänge befinden sich vorzugsweise in den Ausschleusungskanälen und werden mittels eines Fluidikanschlusses, wie einer dichtschießenden Pumpe oder Pumpen und

außerhalb des Analysensystems überführt werden kann. Befindet sich demnach eine separierte Fraktion in einem Ausschleusungskanal, so kann

sie hydromechanisch, beispielsweise elektroosmotisch oder mittels Mikropumpen, aus einem Ausgang heraus aus dem Analysensystem entfernt werden.

- 5 Bei der ausgeschleusten Fraktion kann es sich sowohl um einen störenden Bestandteil handeln, der abgesondert werden soll, damit der Rest der Probe weiter untersucht werden kann, als auch um eine Fraktion, d.h. einen Teil der Probe, der von dem Rest der Probe getrennt weiteren Analyse- oder Derivatisierungsschritten unterzogen werden soll. Die so zu
- 10 analysierenden und separierenden Probenbestandteile können ionisch gelöst, emulgiert, suspendiert, kolloidal oder biologisch zellulär in vorwiegend wässriger Lösung vorliegen.

- 15 Basis der erfindungsgemäßen Vorrichtung ist ein auf dem zwei-dimensionalen Analysensystem befindlicher Detektor. Da miniaturisierte Analysensysteme je nach ihrer konkreten Anwendung sehr unterschiedlich strukturiert sein können, muß der Detektor an beliebigen Stellen des Analysensystems positionierbar sein. Für die erfindungsgemäße Vorrichtung können sowohl Detektoren eingesetzt werden, deren
- 20 maßgeblichste Teile integriert werden können, wie

- Leitfähigkeitsdetektoren ( kapazitive, induktive, ohmsche Messung),
- elektrochemische Detektoren (z.B. Amperometrie, ISFET),
- elektrische Temperaturmessung,

- 25 aber auch externe Detektoren, bei denen nur Teile, z.B. Linsen oder Faseroptik, in das Analysensystem integriert werden, wie

- optische Detektoren ( z.B. Brechungsindex, Temperatur, Absorption, Fluoreszenz, Raman, Lumineszenz)
- NMR
- radioaktives Labeling
- 30 - magnetisches Labeling

Als Detektorvorrichtung werden erfindungsgemäß bevorzugt Leitfähigkeitsdetektoren und optische Detektoren eingesetzt. Für optische Detektoren

kann beispielsweise eine Aufnahmevorrichtung für Lichtleitfaseroptik integriert werden.

5 Für Analysensysteme, in denen Substanzen elektrophoretisch aufgetrennt werden, wird die Forderung einer universellen Detektionsmethode besonders gut von elektrischen Detektionsmethoden wie der Leitfähigkeitsmessung erfüllt. Die Charakterisierung der Analyte erfolgt dabei über deren spezielle elektrische Leitfähigkeit. Eine bestimmte Substanz generiert in einem gegebenen Elektrolytsystem immer die gleiche relative Leitfähigkeit.  
10 Dies gilt für aufeinander folgende Messungen in einem miniaturisiertem Analysensystem und auch für Messungen, die in mehreren miniaturisierten Analysensystemen eines Bautyps erfolgen.

15 Bevorzugt wird in der erfindungsgemäßen Vorrichtung daher eine elektrische Leitfähigkeitsmessung verwendet, die im Falle von direkt kontaktierenden Elektroden den elektrischen Strom oder den elektrischen Spannungsabfall erfaßt oder aber im Falle von galvanisch entkoppelten Elektroden über die Messung des dielektrischen Widerstandes erfolgt.

20 Zur Integration eines Leitfähigkeitsdetektors in einem zweidimensionalen Analysensystem müssen Leitfähigkeitselektroden an beliebigen Stellen des Systems, vor allem kurz vor Abzweigungen entlang des Kanalsystems, integriert werden. Dies ist nur durch eine besondere Art des Aufbaus eines solchen Systems möglich. Zum einen muß das Kanalsystem gas- und flüssigkeitsdicht verschlossen sein, zum anderen muß gewährleistet  
25 werden, daß chemisch inerte Elektroden präzise und reproduzierbar an den gewünschten Positionen angebracht werden können. Nur durch spezielle Techniken zur Herstellung zweidimensionaler Analysensysteme können die

Mikrofluide bzw. mikrostrukturierte Analysensysteme bestehen in der Regel aus einer Durchflußeinheit, die zumindest das Kanalsystem sowie optional

Aussparungen zur Integration peripherer Einrichtungen aufweist, und peripheren Einrichtungen, wie Detektoren, Fluidikanschlüssen, Vorratsgefäßen, Reaktionskammern, Pumpen, Steuervorrichtungen etc., die in die Durchflußeinheit integriert bzw. daran angeschlossen werden können. Als Durchflußeinheiten für mikrofluide Analysensysteme mit Meß- und Steuervorrichtungen zur elektrischen Leitfähigkeit gelten erfindungsgemäß Systeme, in denen durch Zusammenfügen von mindestens zwei Bauteilen, wie z.B. Substrat und Deckel, Mikrokanalstrukturen erzeugt werden, die flüssigkeits- und/oder gasdicht verschlossen werden können.

Die erfindungsgemäßen Systeme bestehen typischerweise aus mindestens zwei Bauteilen, einem Deckel, der mit den Elektroden versehen ist, und einem mikrostrukturierten Substrat. Nach Produktion der Bauteile werden diese durch ein spezielles Bonding-Verfahren zusammengefügt. Auf diese Weise ist es möglich, die erfindungsgemäße Ausschleusevorrichtung in planare Analysensysteme zu integrieren.

Die Bauteile der Durchflußeinheit der Analysensysteme bestehen bevorzugt aus kommerziell erhältlichen thermoplastischen Kunststoffen, wie PMMA (Polymethylmethacrylat), PC (Polycarbonat), Polystyrol oder PMP (Polymethylpenten), cycloolefinischen Copolymeren oder duroplastischen Kunststoffen, wie beispielsweise Epoxidharzen. Bevorzugterweise bestehen alle Bauteile eines Systems aus demselben Material.

Die Bauteile können nach dem Fachmann bekannten Methoden hergestellt werden. Bauteile, die Mikrostrukturen enthalten, können beispielsweise durch etablierte Verfahren, wie Heißprägen, Spritzguß oder Reaktionsguß, produziert werden. Besonders bevorzugt werden Bauteile eingesetzt, die nach bekannten Techniken zur Massenproduktion vervielfältigt werden können. Mikrostrukturierte Bauteile können Kanalstrukturen mit Querschnittsflächen zwischen 10 und 250000  $\mu\text{m}^2$  besitzen. Für die

erfindungsgemäße Ausschleusevorrichtung muß das Kanalsystem neben Bereichen zur Probenaufgabe und einem Trennkanal mindestens eine von einem Trennkanal ausgehende X- oder Y-Verzweigung aufweisen. Zur Integration mehrerer Ausschleusungsvorrichtungen können an beliebigen Stellen des Kanalsystems weitere Verzweigungen eingeführt werden.

Die Elektroden, die für die erfindungsgemäße Ausschleusevorrichtung benötigt werden, sind Transportelektroden, die sich an den Enden der verzweigten Kanäle befinden und ein Umschalten des Potentials zwischen den beiden Kanälen ermöglichen, sowie Detektionselektroden, die bevorzugt zwischen 40 mm und 0,1 µm vor der Abzweigung positioniert sind.

Zur Integration der Elektroden in das Analysensystem bzw. die erfindungsgemäße Vorrichtung, werden die Elektroden bevorzugt an einem Bauteil des Systems, dem Deckel angebracht. Sie müssen dazu eine hinreichende Haftfestigkeit auf dem Kunststoffbauteil aufweisen. Dies ist sowohl für das Zusammenfügen der einzelnen Bauteile als auch für den späteren Einsatz der Analysensysteme von Bedeutung. Werden bei der Verbindung der Bauteile z.B. Klebstoffe eingesetzt, darf der Klebstoff die Elektrode nicht von der Kunststoffoberfläche ablösen. Weiterhin sollten die Elektroden aus chemisch inerten Materialien, wie z.B. Edelmetallen (Platin, Gold) bestehen.

Die Metallisierung von Kunststoffoberflächen erfolgt typischerweise durch elektrochemisches Abscheiden von Metallen aus Metallsalzlösungen. Hierfür ist es allgemein üblich, in einem mehrstufigen Prozeß zunächst die Kunststoffoberfläche chemisch oder mechanisch vorzubehandeln, einen dickentfernd wirkenden Pulver aufzutragen, um die Oberfläche zu reinigen.

Metallisierungstechniken finden sich z.B. in US 4.590.115, EP 0 414 097, EP 0 417 037 und bei Wolf und Gieseke (G.D. Wolf, H. Gieseke, „Neues Verfahren zur großflächigen und partiellen Metallisierung von Kunst-

stoffen," *Galvanotechnik* 84, 2218-2226, 1993). Den naßchemischen Verfahren gemeinsam ist, daß relativ aufwendige Vorbehandlungsprozesse notwendig sind, um ausreichende Haftfestigkeiten zu erreichen.

5 In DE 196 02 659 wird das haftfeste Aufbringen von Kupfer auf mehrphasige Polymermischungen mittels Aufdampfen oder Sputtern beschrieben. Als Ursache der guten Haftung wird die Zusammensetzung der Polymermischungen genannt. Demnach müssen die Mischungen Polyarylsulfide, Polyimide oder einen aromatischen Polyester enthalten.

10 Der Einfluß von Plasmavorbehandlungen zur Erzielung besserer Hafteigenschaften von Metallen auf Kunststoffoberflächen wird von Friedrich (J. Friedrich, „Plasmabehandlung von Polymeren“, *kleben & dichten* 41, 28-33, 1997) am Beispiel verschiedener kommerziell  
15 erhältlicher Thermoplaste zusammengefaßt.

Besonders bevorzugt werden die Elektrodenstrukturen auf den Kunststoffbauteilen mittels einer Zwei-Schicht-Technik erzeugt. Dazu wird zunächst eine haftvermittelnde Schicht aus Chromoxid erzeugt. Im Gegensatz zu  
20 Edelmetallen zeigt Chromoxid hervorragende Hafteigenschaften auf Kunststoffoberflächen. Zudem ist Chromoxid im Gegensatz zu elementarem Chrom und anderen Übergangsmetallen wesentlich beständiger gegenüber Redoxprozessen. Auf die Haftsicht aus Chromoxid wird dann das Edelmetall, wie beispielsweise Platin oder  
25 dessen Legierungen oder Gold, aufgetragen.

Das selektive Aufbringen von Chromoxid und der darauf abzuscheidenden Edelmetallschicht auf Kunststoffsubstraten erfolgt bevorzugt im lift-off-Verfahren oder mittels der Schattenmaskentechnik oder der Strukturierung  
30 von zunächst ganzflächig aufgetragenen metallischen Schichten. Diese Verfahrenstechniken sind Standardprozesse der Mikrostrukturtechnik. Im

folgenden werden die für die Zwei-Schicht-Technik erforderlichen Arbeitsschritte für die genannten Verfahren kurz beschrieben.

5 Lift-off-Verfahren: Das selektiv zu metallisierende Kunststoffbauteil wird mit einem Photolack beschichtet. Dieser Photolack darf dabei das zu metallisierende Kunststoffteil nicht bzw. nur leicht anlösen. Für PMMA hat sich z.B. ein Photolack der Firma Allresist, Berlin (AR 5300/8) als geeignet erwiesen. Nach Belichtung und Entwicklung der zu metallisierenden Strukturen erfolgt das Aufbringen der metallischen Schichten in einer  
10 Sputteranlage. Das Aufbringen der Chromoxidschicht erfolgt während des Sputterprozesses durch das Einleiten von Sauerstoff in das typischerweise verwendete Argon-Plasma der Sputteranlage. Als Sputtertarget wird ein konventionelles Chrom-Target verwendet. Typische Chromoxid-Schichtdicken sind 10-50 nm. Alternativ kann direkt ein Chromoxid-Target  
15 eingesetzt werden. Das Sputtern von Platin bzw. dessen Legierungen oder von Gold wird direkt anschließend unter Standardbedingungen, d.h. im Argon-Plasma, durchgeführt. Als vorteilhaft für die Haftfestigkeit der Chromoxidschicht hat sich außerdem ein vor dem Sputtern des Chromoxids durchgeführtes Rückspattern des Kunststoffs in einem  
20 Sauerstoff/Argon (ca. 5 Vol% / 95 Vol%) Plasma erwiesen. In dem eigentlichen lift-off-Prozeß wird der noch vorhandene Photolack und mit diesem die auf dem Lack befindliche Metallschicht in einem Entwickler der Firma Allresist (AR 300-26) von dem Kunststoffbauteil abgelöst.

25 Schattenmaskentechnik: Das selektiv zu metallisierende Kunststoffteil wird mit einer sogenannten Schattenmaske abgedeckt. Diese hat an den zu metallisierenden Bereichen Aussparungen. Durch diese hindurch werden die Metallschichten in Analogie zum lift off Verfahren aufgesputtert.

Strukturierung nachfolgender metallischer Schichten: Auf einem selektiv zu metallisierenden Kunststoffteil wird zunächst ganzflächig eine Metallschicht in Analogie zum bereits beschriebenen Sputterprozeß aufgebracht. Diese

wird in nachfolgenden Prozeßschritten, entweder durch selektiven Abtrag mittels z.B. Laserablation (Gold und Platin) oder z.B. durch selektives naßchemisches Ätzen, strukturiert. Zur Strukturierung mittels naßchemischem Ätzen wird auf die Metallschicht zunächst ein Photolack  
5 (Hoechst AG, Deutschland; AZ 5214) aufgebracht, belichtet und entwickelt. Gold wird dann in Cyanid-Lösung in den belichteten Bereichen abgelöst. Die elektrisch nicht leitende Chromoxid-Schicht bleibt zurück. Abschließend wird der verbliebene Photolack mit einem Entwickler (z.B. AR 300-26, Fa. Allresist, Berlin) abgelöst.

10 Die Haftfestigkeit von mit Chrom als auch mit Chromoxid als Haftschrift mittels Sputtertechnik hergestellten Elektroden wurde mit Hilfe von Abreißtests überprüft. Die Haftfestigkeit der Chromoxidschichten ist deutlich größer. Auch bei Ultraschallbehandlung in alkalischer Lösung sind die  
15 Metallschichten, welche mit Chromoxid als Haftschrift hergestellt wurden, verglichen mit Metallschichten, die mit Chrom als Haftschrift hergestellt wurden, deutlich beständiger.

20 Nach Produktion und Vorbereitung der einzelnen Bauteile werden diese nach dem erfindungsgemäßen Verfahren zusammengefügt. Bevorzugterweise ist ein Bauteil, das Substrat, mikrostrukturiert und mit rückseitigen Bohrungen bzw. Aussparungen zum Befüllen der Kanäle und/oder Kontaktieren der Elektroden versehen. Desweiteren hat sich auch die Verwendung einer sogenannten Dichtlippe, d.h. einer die Kanalstrukturen  
25 vollständig umschließenden Erhebung auf den Substraten mit Höhen zwischen typischerweise 0,5 bis 5  $\mu\text{m}$ , hinsichtlich des Verklebeprozesses als sehr vorteilhaft erwiesen. Das andere Bauteil, der Deckel, dient zur Abdeckung und ist z.B. bei elektrophoretischen Analysensystemen mit den Elektroden versehen. In diesem Fall wird der Deckel erfindungsgemäß als  
30 Elektrodendeckel bezeichnet. Für bestimmte Anwendungen können die Analysensysteme eine von dieser bevorzugten Anordnung abweichende Funktionalisierung der Bauteile erfordern. In diesem Fall können



beispielsweise mehr als zwei Bauteile, z.B. zwei Deckel und ein Substrat etc, zusammengefügt werden, um übereinander liegende Kanalstrukturen zu erzeugen, oder weitere Funktionalitäten, wie Detektionssysteme, Reaktionskammern etc., in die Bauteile integriert werden. Erfindungsgemäß werden alle Teile der Durchflußeinheit des Analysensystems, die mittels eines Bondingverfahrens zusammengefügt werden, als Bauteile bezeichnet. Sie können mikrostrukturiert sein, mit Elektroden versehen sein oder andere Funktionalitäten aufweisen. Eine Unterteilung der Bauteile in Substrate und Deckel oder auch Elektrodendeckel, falls das entsprechende Bauteil mit Elektroden versehen ist, dient lediglich der näheren Beschreibung der Ausführungsform der speziellen Bauteile und stellt keine Einschränkung bezüglich weiterer Eigenschaften der Bauteile, wie Mikrostrukturierung etc., oder deren Kombination untereinander dar.

Das Zusammenfügen der Bauteile erfolgt erfindungsgemäß mit hoher Präzision. Der Klebstoff darf nicht in die Kanäle hineinlaufen und deren Oberfläche bedecken, da dies die Oberflächeneigenschaften der Kanäle verändern kann. Es wurde gefunden, daß dies beispielsweise zu verstärkter Adhäsion von Analyten, wie z.B. Proteinen, an den Kanalbereichen führt, die mit Klebstoff benetzt sind. Dies wiederum beeinflußt die Trennqualität der Analysensysteme. Genauso beeinträchtigt das Verkleben der Elektroden mit Klebstoff deren Funktionsfähigkeit.

Weiterhin ist es von großer Bedeutung, daß das Volumen der Kanäle nicht verändert wird, wie dies beispielsweise durch das unkontrollierte Einfließen von Klebstoff geschehen würde. Erfindungsgemäß wird der Kanal zur Verbesserung der Detektionsempfindlichkeit bevorzugt in der Umgebung der Detektionselektroden verengt. Dadurch ist es gerade in diesen

Zum Zusammenfügen der Bauteile wird erfindungsgemäß bevorzugt zunächst auf das mikrostrukturierte Bauteil an den Stellen, an denen Kanäle

Strukturierung vorliegt, ein Klebstoff aufgebracht. Die Schichtdicke beträgt zwischen 0,5 und 10  $\mu\text{m}$ , bevorzugt zwischen 3 und 8  $\mu\text{m}$ . Typischerweise erfolgt die Auftragung mittels einem aus der Drucktechnik bekannten flächigen Walzenautrag.

5

In einer bevorzugten Ausführungsform wird hierzu über eine strukturierte metallische Rasterwalze, die ein definiertes Volumen an Klebstoff aufnimmt, ein dünner Klebstofffilm auf eine zweite nicht strukturierte Walze, die mit einem Polymer beschichtet ist, aufgetragen. Von dieser wiederum erfolgt der Auftrag direkt auf das strukturierte Substrat in der Weise, daß sich bevorzugt eine Klebstoffdicke zwischen 3 und 8  $\mu\text{m}$  auf der nicht strukturierten Oberfläche des Substrates ergibt. Je nach verwendetem Kunststoff (Substratmaterial) wird der Übertrag zwischen der Kunststoffwalze und dem Substrat durch eine eventuelle Viskositätssteigerung des Klebstoffes (Vorpolymerisation) beeinflusst. Ein bedeutender Vorteil dieses Verfahrens ist, daß das Substrat relativ zu der den Klebstoff auftragenden Walze nicht positioniert werden muß und trotzdem Klebstoff ausschließlich nur in den nicht strukturierten Bereichen des Substrates aufgebracht ist. Wird zuviel Klebstoff aufgetragen, wird beim Zusammenpressen von Deckel und Substrat Klebstoff in den Kanal einfließen. Ist partiell unzureichend Klebstoff aufgetragen worden, resultieren Undichtigkeiten der Kanalstruktur. Dieses Verbindungsverfahren erfordert eine Ebenheit der Bauteile von bevorzugt kleiner ca. 5  $\mu\text{m}/\text{cm}$  Bauteillänge.

20

25

30

Der verwendete Klebstoff darf die Oberfläche der Bauteile nicht oder nur sehr schwach anlösen, damit die Elektroden beim Verklebungsprozeß nicht vom Klebstoff abgelöst oder unterbrochen werden. Bevorzugterweise wird daher als Klebstoff das Produkt NOA 72, Thiolacrylat der Firma Norland, New Brunswick NJ, USA verwendet. Dieser Kleber wird photochemisch ausgehärtet. Es können jedoch für das Verfahren auch andere Arten von Klebern, wie z.B. thermisch härtende Kleber, verwendet werden, die die oben genannten Voraussetzungen erfüllen.

Nach dem Aufbringen des Klebstoffs wird das zweite Bauteil mit den  
Dünnschichtelektroden beispielsweise auf einer Belichtungsmaschine zu  
dem Substrat geeignet positioniert und aufgepreßt. Hierzu wird bevorzugt  
5 das Substrat mit dem aufgetragenen Klebstoff in der Belichtungsmaschine  
in der sonst für Silizium-Wafer vorgesehenen Position fixiert. Bevorzugt ist  
die Verwendung von starken Glasplatten als Preßfläche, da so direkt die  
Positionierung und die photochemische Härtung des Klebers durch  
Bestrahlung mit einer Hg-Lampe (Emissionswellenlänge 366 nm)  
10 durchgeführt werden kann. Der Elektrodendeckel wird in der für die  
Belichtungsmaske vorgesehenen Position fixiert, indem er mit einer  
Glasplatte eingefrästen Vakuumvorrichtung gehalten wird. Da sowohl der  
Elektrodendeckel als auch die zur Halterung des Deckels verwendete  
Glasplatte transparent sind, kann durch diese Anordnung hindurch der  
15 Deckel bezüglich des Substrates justiert werden. Falls der Deckel über das  
Substrat hinausragt, kann dieser auch mechanisch gehalten werden.

Die Positionierung des Deckels auf dem Substrat kann für den Klebe-  
vorgang typischerweise neben einer optisch mechanischen Justage unter  
20 Zuhilfenahme von optischen Justagemarken auch passiv mechanisch mit  
Hilfe einer Einrastvorrichtung, optisch mechanisch ohne besondere  
Justagemarken oder elektrisch mechanisch mit Hilfe von elektrischen  
Marken (Kontakten) erfolgen.

25 Es wurde gefunden, daß die bevorzugten optischen metallischen  
Justagemarken auf dem Deckel in demselben Prozeßschritt wie die  
Elektroden aufgebracht, d.h. bevorzugt aufgesputtert, werden können, d.h.  
es ist kein Mehraufwand notwendig. Auch die entsprechenden

Verzerrung, da diese gemeinsam mit der Kanalstruktur in einem  
Abformschritt in das Substrat eingebracht werden. Für die optisch  
mechanische Justage muß zumindest ein Bauteil aus einem transparenten

Kunststoff bestehen. Mit Hilfe der erfindungsgemäß aufgebrachten Justagemarken werden die beiden Bauteile mit einer Genauigkeit von mindestens  $\pm 10 \mu\text{m}$ , typischerweise sogar  $\pm 2 \mu\text{m}$  (z.B. Soll- zu Ist-Position der Detektorelektrode) zueinander positioniert und zusammengepreßt. Die  
5 hohe Positioniergenauigkeit unterstützt die Realisierung reproduzierbarer Analyseergebnisse. Nun wird mit einer UV-Lampe der Klebstoff polymerisiert. Nach dem Abschalten des Vakuums für die Deckelhalterung bzw. Lösen der mechanischen Fixierung wird die Durchflußeinheit aus der Belichtungsmaschine entnommen.

10 In einer anderen bevorzugten Ausführungsform wird ein Bauteil mittels eines in der Drucktechnik bekannten Verfahren (Tampon-Druck) mit Klebstoff versehen. Das mit den Elektroden versehene Bauteil wird dazu auf den Bereichen, die beim Zusammensetzen der beiden Bauteile nicht  
15 über einem Kanal liegen oder elektrisch kontaktiert werden müssen mit dem Kleber benetzt. Mikrostrukturierte Bauteile werden so benetzt, daß kein Klebstoff in die Kanalstruktur oder sonstige Aussparungen gelangt. Bei dem Tampon-Druck handelt es sich um einen strukturierten Kleberauftrag. In einer Negativform des Substrates wird Klebstoff bevorratet. Durch ein  
20 typischerweise Silikonkissen wird dieser Klebstoff strukturiert aufgenommen und z.B. auf den Deckel so aufgebracht, daß die Bereiche, die später eine Wand eines Fluidikkanals bilden, nicht mit Klebstoff benetzt werden. Das Bauteil mit den Kanalstrukturen wird anschließend, wie bereits beschrieben, geeignet zu seinem Gegenstück positioniert und aufgepreßt.  
25 Die Aushärtung erfolgt wie oben beschrieben.

Auch ein strukturierter Kleberauftrag mittels Sprühtechniken (z.B. microdrop-Verfahren) oder unter Verwendung der Siebdrucktechnik ist möglich, sofern die laterale Auflösung des Kleberauftrags ausreicht.

30

Unter Aufpressen des zweiten Bauteils bzw. Zusammenpressen der Bauteile ist erfindungsgemäß zu verstehen, daß die Bauteile geeignet

miteinander in Kontakt gebracht werden. Um nach der Aushärtung eine dauerhafte Verbindung der Bauteile zu erzielen, ist es zumeist nicht notwendig, eine große Kraft auszuüben, d.h. die Bauteile sehr stark aufeinander zu pressen.

5

Wird der Aushärteprozeß des Klebers außerhalb der zur Positionierung von Deckel und Substrat verwendeten Justagevorrichtung durchgeführt, können der metallisierte Deckel und das Substrat, nachdem sie zueinander justiert wurden, mittels Laserschweißen zunächst geheftet werden. Hiernach wird  
10 der Verbund aus der Justagevorrichtung genommen und in einer separaten Belichtungsappatur oder einem Ofen wird der verwendete Klebstoff ausgehärtet. Diese Vorgehensweise bedeutet eine Prozeßbeschleunigung und Vereinfachung, da das Aushärten nicht mehr in der Justagevorrichtung erfolgen muß.

15

Da die bevorzugterweise verwendeten thermoplastischen Materialien für Laserlicht im sichtbaren und nahinfraroten Wellenlängenbereich weitestgehend transparent sind, erfordert das Laserschweißen in diesem Wellenlängenbereich eine Absorberschicht zum Absorbieren der optischen  
20 Leistung an der Grenzfläche zwischen Deckel und Substrat. Diese Absorberschicht wird gleichzeitig mit dem Aufbringen der Leistungs- bzw. Detektorelektroden aufgebracht. Beispielsweise kann der Elektrodendeckel beim Besputtern der Elektroden mit Edelmetall zusätzlich an weiteren Stellen mit einer Edelmetallschicht als Absorberschicht besputtert werden.

25

Das Verschweißen eines mit 200 nm dicken Platin-Elektroden versehenen Elektrodendeckels, der somit auch zusätzliche Platin-Flächen zum Absorbieren der Laserleistung beinhaltet, mit einem Substrat (Basismaterial

40 und 800 nm mit einer Leistung von 40 Watt bei einem

Fokusbereich von 1,6 mm. Die Platin-Schicht wird beim Verschweißen zerstört

Alternativ ist auch die Verwendung eines z.B. mit Rußpartikeln gefüllten Substrates oder Deckels als Absorber möglich. Diese letztgenannte Vorgehensweise, hat aber zum Nachteil, daß dann mindestens eine

5 Kanalwand aus einem anderen Material besteht. Auch die Möglichkeiten, optische Leistung für optische Detektionszwecke in den Kanal ein- oder auszukoppeln, werden dadurch eingeschränkt.

Die Kontaktierung der Transport- und Detektionselektroden sowie die

10 automatische Regelung und das Umschalten des elektrischen Flusses erfolgen nach dem Fachmann bekannten Methoden.

Auf diese Weise können Transport- und Detektionselektroden derart in die mikrostrukturierten Analysensysteme integriert werden, daß eine oder

15 mehrere erfindungsgemäße Ausschleusevorrichtungen erzeugt werden. Die Integration der Ausschleusevorrichtungen erfordert weder zusätzlichen Aufwand noch wird die Qualität (Stabilität, Größe etc.) der Analysensysteme beeinflusst.

Somit stellt die erfindungsgemäße Vorrichtung eine wichtige zusätzliche Funktionalität für planare mikrostrukturierte Analysensysteme dar. Sie ermöglicht erstmals das Design multifunktioneller mikrostrukturierter Analysensysteme bzw. Durchflußeinheiten für Analysensysteme. Die Systeme sind nicht nur in der Lage, Proben aufzutrennen, sie können

20 vielmehr Proben trennen, identifizieren und selektieren, ohne daß die Probe das Analysensystem verläßt. Dies eröffnet auch die Möglichkeit, lediglich bestimmte Probenbestandteile nach der Ausschleusung aus dem Analysensystem auszuführen, oder diese im System weiteren

25 Derivatisierungs- oder Analyseschritten zu unterwerfen.

Durch die beschriebenen Herstellverfahren der Elektroden und Bondingverfahren können erstmals geschlossenen Mikrokanalstrukturen

30

erzeugt werden, in denen Elektroden an beliebigen Stellen innerhalb der Kanäle positioniert werden können. Strukturierte Bauteile (Substrate) können flüssigkeits- und gasdicht mit beispielsweise Elektrodendeckeln versehen werden. Durch die Verwendung zumeist kommerziell erhältlicher Kunststoffe und einfacher Verarbeitungsschritte können derartige Analysensysteme kostengünstig und in großen Zahlen produziert werden. Durch das spezielle Verfahren zum Zusammenfügen bzw. Bonden, werden die Bauteile so mit Klebstoff benetzt, daß nach dem Zusammenfügen kein Klebstoff in das Innere des Kanalsystems, d.h. in die Kanäle, die Wände oder auf in das Kanalsystem ragende Elektroden oder sonstige Vorrichtungen gelangt. Dadurch wird die Trennqualität und Analyseempfindlichkeit der Systeme verbessert. Sie erfüllen alle Anforderungen, die an ein variabel einsetzbares, genau arbeitendes Analysensystem gestellt werden müssen:

- Sie zeigen hohe Dimensions- und Volumenstabilität der Kanäle.
- Durch die Festigkeit der Klebeverbindungen sind sie im Inneren der Kanäle druckstabil.
- Es besteht eine große Variabilität bezüglich der verwendbaren Kunststoffe.
- Es können chemisch inerte Materialien für Bauteile und Elektroden verwendet werden.
- Alle vier Kanalwände bestehen bevorzugt aus dem gleichen Material.
- Die Elektroden sind auf  $\pm 10 \mu\text{m}$  genau an beliebigen Stellen der Kanäle positionierbar.
- Die Kontaktflächen der Elektroden sind frei von Verunreinigungen durch Klebstoff.
- Die Elektroden können leicht angeschlossen werden.

Abbildung 2 veranschaulicht das Ausschleusen einer Substanz mithilfe der erfindungsgemäßen Vorrichtung. Es werden drei verschiedene Stadien des Ausschleusens in den Bildern A, B und C gezeigt. Die schematisierte Ausschleusungsvorrichtung besteht aus einem Y-verzweigten Kanalsystem mit den Transportelektroden 1, 2 und 3 an den Enden der Kanäle. Das Kanalstück zwischen Elektrode 1 und 2 dient als Trennkanal, der zu Elektrode 3 abzweigende Kanal ist der Ausschleusungskanal. Kurz vor Abzweigung des Ausschleusungskanals befindet sich im Trennkanal eine Detektorelektrode 4. In Bild A wandern die zu trennenden Substanzen 5 und 6 aufgrund eines Potentials zwischen den Elektroden 1 und 2 entlang des Trennkanals. Bild B zeigt den Moment, in dem die gesuchte Substanz 5 die Detektorelektrode passiert. Das detektierte Signal, beispielsweise die spezifische relative Leitfähigkeit, bewirkt ein Umschalten des Potentials, so daß nun ein Potential zwischen Elektrode 1 und 3 besteht. Dadurch wandert, wie in Bild C gezeigt, Substanz 5 in den Ausschleusekanal und wird so von Substanz 6, die sich im Trennkanal befindet, separiert. Nachdem Substanz 5 den Detektorbereich passiert hat und in den Ausschleusungskanal gewandert ist, kann das Potential erneut umgeschaltet werden, damit keine weiteren Substanzen in den Ausschleusungskanal gelangen.

Abbildung 3 zeigt schematisch ein Beispiel eines miniaturisierten planaren Analysensystems mit integrierter erfindungsgemäßer Vorrichtung zum Ausschleusen von Proben. Das System enthält einen Trennkanal T1 mit zwei Transport- bzw. Leistungselektroden E3 und E5 an den Enden und zwei Detektionselektroden E1 und E2 kurz vor der Verzweigungsstelle V des Kanalsystems. An der Verzweigungsstelle V zweigt ein Kanal ab, der sich wiederum dreifach verzweigt. An den Enden befinden sich ein Reservoir P, ein Mischungsreaktor R und ein weiteres Reservoir mit einer Leistungselektrode E4. Wird nun ein Substanzgemisch entlang des Trennkanals T1 aufgetrennt, kann mithilfe der Detektionselektroden E1 und E2 festgestellt werden, wann die gewünschte Probensubstanz an die



Verzweigungsstelle V des Kanalsystems gelangt. In diesem Moment wird das Potential umgeschaltet, so daß nun eine Potentialdifferenz zwischen E5 und E4 besteht. Dadurch wandert die ausgewählte Substanz in die Abzweigung des Kanalsystems. Nachdem die Detektionselektroden E1 und E2 anzeigen, daß die Substanz die Verzweigungsstelle passiert hat, kann das Potential erneut umgeschaltet werden. Die in die Abzweigung abgesonderte Substanz kann nun mechanisch durch einen Flüssigkeitsstrom aus dem Reservoir bei E4 in den Mischungsreaktor R transportiert werden. Zusätzlich können durch einen ähnlichen Flüssigkeitsstrom ausgehend von dem Reservoir P parallel weitere Substanzen, z.B. Reaktanden zur Derivatisierung, in den Mischungsreaktor geleitet werden, wo sie sich mit der Probensubstanz mischen und gegebenenfalls mit dieser reagieren.

Abbildung 4 zeigt schematisch ein Beispiel eines miniaturisierten planaren Analysensystems mit integrierter erfindungsgemäßer Vorrichtung zum Ausschleusen von Proben, einer Vorrichtung zur Aufgabe definierter Probenvolumina und einem Trennkanal. Ein solches Analysensystem bietet die Möglichkeit, ein definiertes großes Probenvolumen aufzugeben, dieses beispielsweise mittels ITP aufzutrennen, durch die erfindungsgemäße Ausschleusevorrichtung eine bestimmte Fraktion der Probe zu separieren und optional die abgetrennte Fraktion oder den Rest der Probe erneut aufzutrennen und zu analysieren oder aus dem System zu entfernen. Die Vorrichtung zur Probenaufgabe besteht aus den Kanalabschnitten K1 und K2, die von den Fluidikanschlüssen F1 und F2 bzw. F2 und F3 begrenzt werden. Als Fluidikanschlüsse dienen typischerweise dichtschießende Mikropumpen oder Mikropumpen und Ventile. Das Volumen des Kanalabschnitts K1 beträgt typischerweise 5 oder 10 µl, das des

und gleichzeitiges Befüllen des Kanalabschnitts K1 mit der Probenlösung über den Fluidikanschluß F1 wird ein durch das Volumen von K1

bestimmtes definiertes Volumen der Probe in das Kanalsystem gefüllt. Ein größeres Volumen kann aufgegeben werden, wenn statt des Fluidikanschlusses F2 der Fluidikanschluß F3 geöffnet wird. Dann ergibt sich das aufgegebene Volumen der Probe aus der Summe der Volumina der Kanalabschnitte K1 und K2. Soll das Volumen der aufgegebenen Probe dagegen kleiner sein, wird durch Öffnen der Fluidikanschlüsse F2 und F3 lediglich der Kanalabschnitt K2 befüllt. Durch Variation der Größe der Kanalabschnitte K1 und K2 oder auch durch Hinzufügen weiterer mit Fluidikanschlüssen begrenzter Kanalabschnitte kann so das Aufgabevolumen variiert und an die entsprechenden Anforderungen der Probe angepasst werden. Die Auftrennung der Probe erfolgt in dem sich anschließenden Kanalsystem (K3, K4, K5). Dazu befinden sich an den Enden des gesamten Kanalsystems, d.h. anschließend an K1, K4 und K5 jeweils Flüssigkeits- oder Pufferreservoirs R1, R2 und R3 sowie Leistungselektroden L1, L2 und L3. Die Pufferreservoirs können über die Fluidikanschlüsse F1, F4 bzw. F5 befüllt werden. Falls lediglich Kanalabschnitt K1 zur Probenaufgabe verwendet wird, kann zusätzlich Kanalabschnitt K2 zur Verlängerung der Trennstrecke eingesetzt werden. Die Trennung der Probe kann z.B. bei rein analytischen Fragestellungen über Kanalabschnitt K3 bis zu Kanalabschnitt K5 ausgedehnt werden. Die Detektion erfolgt dann mittels der kurz vor R3 angebrachten Detektionselektroden D3 und D4. Soll eine Fraktion der Probe von dem Rest getrennt werden, wird die erfindungsgemäße Vorrichtung zum Ausschleusen verwendet. Diese wird gebildet durch den Trennkanalabschnitt K3, die Verzweigungsstelle Vz, die beiden abzweigenden Kanalabschnitte K4 und K5, die vor der Verzweigungsstelle Vz befindlichen Detektionselektroden D1 und D2 sowie durch eine nicht in der Abbildung dargestellte Schaltvorrichtung zur Steuerung der Leistungselektroden. Sobald die gewünschte Fraktion während der Trennung die Detektionselektroden D1 und D2 passiert, kann das Potential der Leistungselektroden L1, L2 und L3 entsprechend modifiziert werden. Falls zunächst der Transport von L3 zu L2 erfolgte, kann die Fraktion durch Umschalten auf

eine Potentialdifferenz zwischen L3 und L1 an der Verzweigungsstelle Vz in den Kanal K4 ausgeschleust werden. Nachdem die Fraktion Vz passiert hat, wird durch erneutes Umschalten der Rest der Probe wieder in K5 transportiert. Die ausgeschleuste Fraktion kann dann über den Fluidik-anschluß F4 aus dem Analysensystem entnommen werden. Der in K5 verbliebene Rest der Probe kann über die Detektionselektroden D3 und D4 erneut analysiert werden. Genauso kann die auszuschleusende Fraktion durch andere Schaltung der Leistungselektroden an Vz in Kanalabschnitt K5 ausgeschleust werden, während der Rest der Probe in Kanalabschnitt 4 transportiert wird. In diesem Fall kann die ausgeschleuste Fraktion an D3/D4 erneut detektiert werden. Weiterhin besteht die Möglichkeit, das Kanalsystem mit zwei unterschiedlichen Puffersystemen zu befüllen und so zwei unterschiedliche Trennungen direkt hintereinander durchzuführen. Dazu werden die Kanalabschnitte K3 und optional zusätzlich K2 mit dem ersten Puffersystem gefüllt. Ab der Verzweigungsstelle Vz werden die Kanalabschnitte K4 und K5 mit dem zweiten Puffersystem befüllt. Die erste Trennung erfolgt entlang K2/K3. An Vz kann dann eine Fraktion der Probe in Kanalabschnitt K5 ausgeschleust werden oder auch die gesamte Probe in diesen Kanalabschnitt überführt werden. Sobald die Probe diesen Kanalabschnitt mit dem anderen Puffersystem erreicht, erfolgt dann die zweite Trennung. Die Kontrolle der beiden Trennungen erfolgt über die Detektionselektroden D1 und D2 für die erste Trennung und das optionale Ausschleusen, sowie mit D1/D2 für die Kontrolle der zweiten Trennung. Auf diese Weise können z.B. eine isotachophoretische Trennung und eine elektrophoretische Trennung oder auch zwei isotachophoretische Trennungen kombiniert werden.

Man kann die obige Beschreibung im weitesten Umfang nutzen kann. Die bevorzugten Ausführungsformen und Beispiele sind deswegen lediglich als

beschreibende, keineswegs als in irgendeiner Weise limitierende Offenbarung aufzufassen.

5 Die vollständige Offenbarung aller vor- und nachstehend aufgeführten  
Anmeldungen, Patente und Veröffentlichungen, sowie der korrespon-  
dierenden Anmeldung DE 199 27 535, eingereicht am 16.06.1999, ist durch  
Bezugnahme in diese Anmeldung eingeführt.

10

15

20

25

30

## Ansprüche

1. Vorrichtung zum Ausschleusen von Fraktionen für planare  
mikrostrukturierte Analysensysteme, im wesentlichen bestehend aus  
5 einem verzweigten Kanalsystem, mindestens drei Transportelektroden ,  
mindestens einer Detektionsvorrichtung vor einer Verzweigungsstelle  
des Kanalsystems und einer elektrischen Schaltvorrichtung.
2. Vorrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die  
10 Detektionsvorrichtung ein elektrochemischer Detektor ist.
3. Verwendung einer Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 2 in einem  
planaren, mikrostrukturierten Analysensystem.

15

20

25

## **Zusammenfassung**

Die Erfindung betrifft eine Vorrichtung zum Ausschleusen definierter Teile  
von Proben nach einer präparativen oder analytischen Flüssigphasen-  
5 trennung in planaren, miniaturisierten Analysensystemen aus dem Trenn-  
kanal in einen weiteren Kanal. Durch die Möglichkeit zur Positionierung von  
Detektoren, wie beispielsweise zur Leitfähigkeitsmessung, an beliebigen  
Stellen im Analysensystem, kann die Ausschleusevorrichtung direkt in das  
Analysensystem integriert werden.

10

15

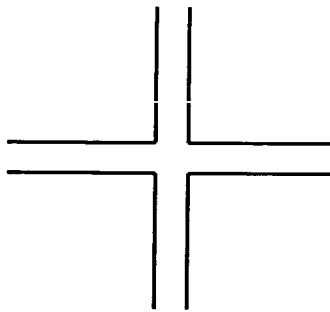
20

25

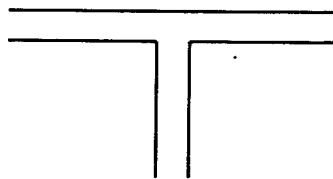
30

1/4

Fig. 1



X

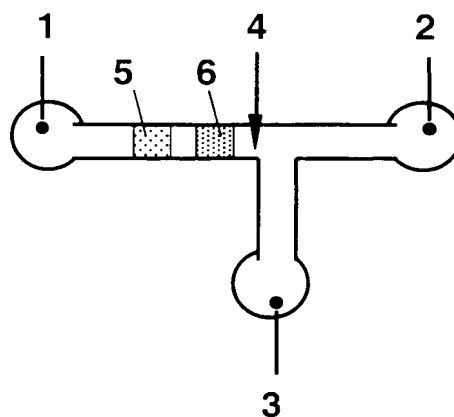


Y

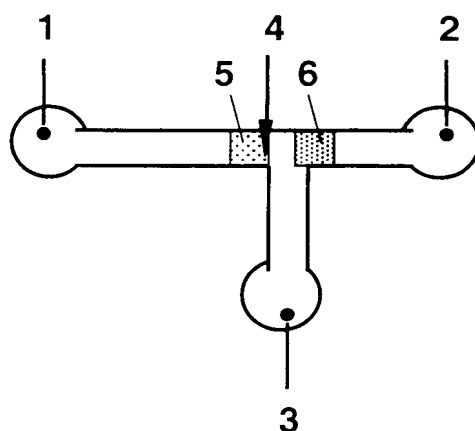
2/4

Fig. 2

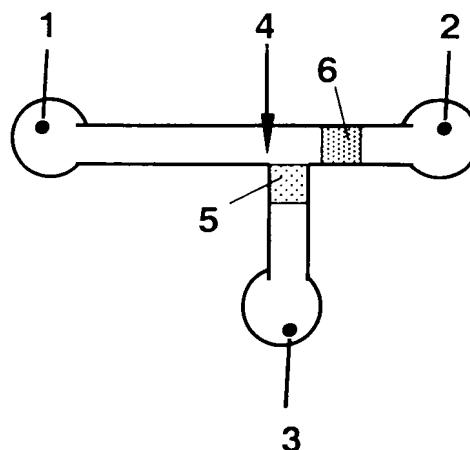
A



B



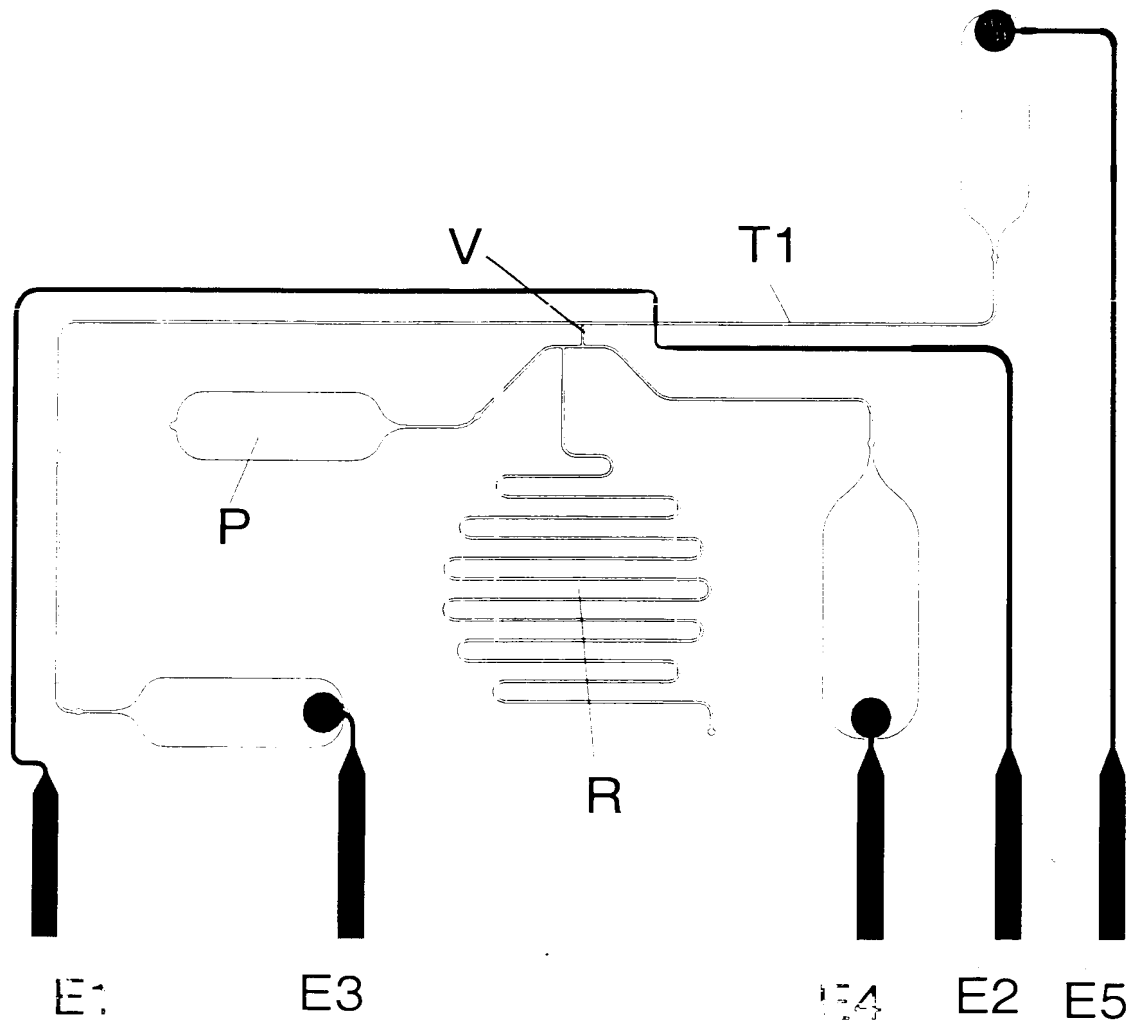
C





3/4

Fig. 3



4/4

Fig. 4

